

LA REGULATION DE L'ACTIVITE BACTERIENNE HETEROTROPHE
DANS LES MILIEUX NATURELS.

Gilles BILLEN
Laboratoire d'Océanographie
ULB.

" A voir les phénomènes complexes dont la cuve du vigneron et celle du brasseur sont le siège, le temps et l'intelligence que l'homme a dû dépenser pour en saisir le sens, on conçoit toutes les difficultés auxquelles se sont heurtés les chercheurs qui ont voulu élucider la résultante des actions de plusieurs microbes."

P.G. Charpentier, "Les Microbes" Vuibert & Nony, éd.
(Paris) 1909.

INTRODUCTION.

Dans la plupart des milieux aquatiques, l'importance quantitative de l'activité bactérienne hétérotrophe dans les cycles de matière apparaît de plus en plus.

C'est dans les rivières polluées que le rôle prépondérant de l'activité microbiologique dans la dégradation de la matière organique est reconnu depuis le plus longtemps.

Dans les sédiments, le rôle dominant des microorganismes par rapport à l'action du méio- et du macrobenthos dans le recyclage de la matière organique, et le fait que les microorganismes plutôt que les détritus eux-mêmes constituent la source alimentaire de nombreux invertébrés benthiques n'a été établi que plus récemment (Fenchel, 1972; Billen, 1978).

Enfin, dans la phase pélagique de l'écosystème marin, ce n'est que tout récemment que le paradigme selon lequel l'essentiel de la circulation de la matière se fait à travers la chaîne trophique phyto-, zooplancton, poissons commence à être mis en doute, au moins en ce qui concerne les milieux côtiers. Les estimations de l'activité bactérienne hétérotrophe dans ces milieux, réalisées de façon concordantes par des méthodes diverses et indépendantes, montrent que cette activité dépasse largement celle du zooplancton et parfois même la production primaire particulaire (Joiris, 1977).

Or, si la dépendance de la photosynthèse vis à vis de la lumière et de la concentration en nutriments et celle de l'activité du zooplancton vis à vis de la concentration du phytoplancton ont fait l'objet de nombreuses études qui ont abouti à une modélisation satisfaisante de ces phénomènes, par contre, le déterminisme de l'activité bactérienne hétérotrophe vis à vis de la matière organique a été beaucoup moins étudié et est traité dans tous les modèles d'écosystèmes selon une démarche réductionniste beaucoup trop simpliste.

Nous nous proposons dans cette note:

- 1) de faire la critique des approches classiques utilisées jusqu'ici pour modéliser l'interaction matière organique bactéries;
- 2) de suggérer une autre approche basée davantage sur la réalité physiologique des phénomènes impliqués.

I. LES APPROCHES CLASSIQUES DE L'INTERACTION MATIERE ORGANIQUE/ BACTERIES.

A. Rivières polluées.

La plupart des modèles décrivant l'épuration des rivières sont encore essentiellement basés, à quelques aménagements près, sur le modèle de Streeter et Phelps (1925). Dans ce modèle, la charge organique globale (L) est supposée être dégradée par l'activité hétérotrophe selon une loi du premier ordre:

$$\frac{dL}{dt} = - K_1 L$$

où K_1 est considérée comme une constante caractéristique de la rivière (et de sa population bactérienne) et dépend seulement de la température.

La constance de K_1 ne tient évidemment pas compte des ajustements numériques des populations microbiennes en réponse aux variations de matière organique. Cette critique a amené certains auteurs à proposer des cinétiques d'ordre 1 par rapport à la charge d'une part, et à la biomasse bactérienne (B) d'autre part. (Simpson, 1968):

$$\frac{dL}{dt} = \delta B L$$

avec $\frac{dB}{dt} = Y \frac{dL}{dt}$

C'est cependant au niveau de la définition de la charge (L) que se posent les problèmes les plus fondamentaux. Si L est identifiée à la matière organique totale (TOC), les prévisions du modèle ne concordent pas avec les faits observés: une quantité résiduelle de la matière organique totale semble n'être dégradée que selon une cinétique beaucoup plus lente. On définit alors L comme la fraction non réfractaire de la matière organique totale, celle qui est effectivement utilisable par l'activité microbiologique. Elle est mesurée par la quantité d'oxygène utilisée pour sa dégradation au cours d'un temps estimé suffisant pour que celle-ci puisse être considérée comme complète (BOD 5jours).

Cependant, l'observation de ce que, au cours de la mesure de la BOD, la courbe de consommation d'oxygène présente bien souvent des phases successives nettement distinctes dément à la fois l'hypothèse d'une cinétique du premier ordre et le fait que la valeur totale de la BOD puisse être considérée comme le facteur déterminant de l'activité hétérotrophe instantanée.

D'autre part, dans les milieux anaérobies, la notion même de BOD perd une bonne partie de son sens.

B. Sédiments.

Le même type de démarche a été utilisée pour décrire la dégradation de la matière organique dans les sédiments.

Ainsi, les modèles diagénétiques de Berner (1974) relatifs à la minéralisation de l'azote ou du phosphore supposent tous une activité hétérotrophe du premier ordre par rapport au pool de matière organique utilisable pour le processus impliqué.

La contradiction la plus flagrante de ce type de modèle apparaît dans la manière dont Berner (1964, 1974) traite de la sulfatoréduction:

Le processus de sulfatoréduction est supposé du premier ordre par rapport à la fraction G de la matière organique utilisable par les bactéries sulfatoréductrices:

$$r_{SO_4} = k G$$

et $\frac{\partial G}{\partial t} = - \frac{\partial G}{\partial z} - k' G = 0 \quad (1)$

avec G_0 déterminé par ajustement.

On sait que les bactéries sulfatoréductrices présentent une spécificité de substrat particulièrement étroite. Il semble bien que le lactate constitue le seul substrat effectivement utilisé dans les milieux naturels (Capenberg, 1974; Vosjan, 1975). G devrait donc, dans le modèle de Berner, représenter la concentration en lactate. Cependant il est absurde de considérer que le lactate soit présent initialement dans la matière sédimentée sous forme d'un stock non régénéré et progressivement épuisé, comme le fait implicitement le modèle (1). En fait le lactate est produit continuellement par divers métabolismes fermentatifs dont la distribution de l'intensité en fonction de la profondeur dans le sédiment n'a aucune raison a priori d'être exponentiellement décroissante.

C. Milieux marins pélagiques.

Dans les milieux pélagiques, les rares modèles qui prennent en compte l'activité bactérienne la font dépendre linéairement de la matière organique dissoute, produite d'ailleurs exclusivement par l'excrétion phytoplanctonique (ex. Pichot & Runfola, 1977).

Mommaerts (1978) précise quelque peu cette approche en distinguant, dans la matière organique dissoute, une fraction produite essentiellement par l'excrétion phytoplanctonique, à turnover très court, et une fraction, produite par la mortalité naturelle du phytoplancton et l'excrétion du zooplancton, à turnover plus long. Cette distinction reste cependant quelque peu arbitraire.

II. ELEMENTS POUR UNE APPROCHE ECO-PHYSIOLOGIQUE DE L'INTERACTION MATIERE ORGANIQUE - BACTERIES.

A. Spéciation de la matière organique et notion de "matière organique directement utilisable"

S'il est exact que tout essai de compréhension ou de modélisation du fonctionnement d'un écosystème exige une certaine réduction des variables, c'est à dire la considération d'un nombre fini de compartiments regroupant divers composants de l'écosystème, il peut se faire qu'un choix arbitraire de la division en compartiments déforme la réalité des phénomènes et constitue un handicap sérieux à la compréhension des lois d'évolution du milieu.

L'analyse du chapitre précédent suggère qu'il aurait bien pu en être ainsi du compartiment matière organique utilisable et de ses définitions successives. Le choix de celles-ci semble en effet avoir résulté le plus souvent de contingences opérationnelles plutôt que d'une analyse sérieuse des phénomènes impliqués sur le plan microbiologique.

C'est cette analyse que nous voudrions esquisser ici.

1. Spéciation de la matière organique selon la taille.

Une distinction est traditionnellement introduite entre POM (matière organique particulaire) et DOM (matière organique dissoute). Le critère utilisé est arbitraire: passage à travers un filtre de 0.2 μ de porosité. Son seul intérêt est d'exclure du compartiment DOM tous les organismes vivants (non viraux).

En général, l'ordre de grandeur du rapport POM/DOM vaut, selon les milieux:

mer ouverte	0.1	
rivières polluées	1	ex. Escaut amont: 5
sédiments	10	

Plus intéressants sont les résultats de la fractionnement de la DOM par ultrafiltration (membranes Diaflo) ou par dialyse, qui permettent de séparer les composés organiques à haut (>1000-500) et à bas (<500-400) poids moléculaire (Tableau I).

Tableau I: Ultrafiltration ou dialyse de la matière organique dissoute.

	fraction	%	auteurs
Eau de mer:	< 400	10%	Degens, 1968 Breger, 1968
	< 500	33%	Ogura, 1974
Eau interstitielle de sédiments marins:	< 1000	20-50%	Kron & Sholkovitz, 77
Effluents secondaires:	<3000	60%	Bunch et al., 1963

La proportion de composés à haut poids moléculaire augmente avec l'âge de la matière organique (en profondeur dans la colonne d'eau (Ogura, 1974; Nissenbaum & Kaplan, 1972), et dans les sédiments (Kron & Sholkovitz, 1977)).

2. Spéciation chimique de la matière organique dissoute.

L'ensemble des résultats publiés dans la littérature concernant les dosages chimiques directs de petites molécules organiques dans l'eau de mer a été revu récemment par Dawson (1976). Le tableau II résume les ordres de grandeur des concentrations trouvées en Mer du Nord et dans la Baltique.

Tableau II: Fraction spécifiable de la matière organique dissoute

Valeurs représentatives pour la Mer du Nord
(Dawson, 1976)

DOC	env. 1000 $\mu\text{g C / l}$
Ac. Aminés libres	10
combinés	50 (à 100)
Glucides libres	20
combinés	200
Ac. Gras	10
Cétones	10
Aldéhydes	5
Hydrocarbures	5
Urée	10
Ac. Uroniques	18
<hr/>	
Total spécifié	340
Monomères libres	80

On voit que la fraction chimiquement spécifiable n'est que de l'ordre de 30 %. Les monomères libres ne constituent que 10 % de la matière organique totale.

Ces résultats sont parfaitement cohérents avec ceux cités plus haut concernant la fractionnement selon le poids moléculaire: on peut en conclure que la fraction non chimiquement spécifiable est constituée de substances de haut poids moléculaire.

3. Notion de matière organique directement utilisable.

a. Absorption et phagocytose.

Toute molécule organique qui pénètre à travers la membrane à l'intérieur d'une bactérie le fait par un processus actif à l'intervention d'un enzyme spécifique appelé perméase.

Seules peuvent être absorbés de petites molécules organiques de faible poids moléculaire (monomères, ou éventuellement di- ou trimères).

Ce n'est que par la production d'exoenzymes que les particules ou les molécules de haut poids moléculaire peuvent être in fine absorbées (Rogers, 1961).

La propriété de phagocytose des particules, qui permet de lutter contre la dispersion des exoenzymes et des produits de leur activité, n'est développée que chez les protozoaires.

b. Matière organique directement utilisable.

Il résulte de tout ceci que le pool de matière organique directement utilisable par les bactéries est essentiellement contenu dans l'ensemble des monomères libres de la fraction chimiquement spécifiable de la matière organique dissoute.

Dawson et Gocke (1978) attirent cependant l'attention sur le fait que certaines molécules considérées comme "chimiquement" libres selon les critères des méthodes analytiques utilisées actuellement, pourraient se trouver en fait à l'état de complexes avec des métaux ou adsorbés sur des colloïdes et ne pas être réellement disponibles pour l'activité microbiologique.

B. L'action des exoenzymes.

Outre la production directe de substrats organiques directement utilisables (monomères) par l'excrétion phytoplanctonique, il peut en être produit à partir de la POM ou de la matière organique dissoute de haut poids moléculaire. Ceci n'est possible que grâce à l'intervention d'exoenzymes; l'autolyse spontanée des polymères est un phénomène extrêmement lent au pH de la plupart des milieux naturels.

1. Mise en évidence directe de la présence des exoenzymes.

Par filtration douce sur membrane de 0.2 μ de porosité d'échantillons de 0.5 à 1 l d'eau de mer, d'estuaire ou d'eau interstitielle de sédiments, puis concentration par dialyse contre du polyéthylène glycol, Kim & Zobell (1974) ont réussi à mettre en évidence la présence d'exophosphatase, d'exoamylase et d'exoprotéase dans la plupart des milieux naturels testés.

2. Régulation de la production d'exoenzymes.

La production d'exoenzymes est réprimée par la présence du produit monomérique de leur activité.

Ainsi, chez *Bacillus subtilis*, le glucose réprime la production d'amylase (Green et Colarusso, 1964) et les acides aminés, celle de la protéase (May et Elliott, 1968; Neumark & Citri, 1962).

La production d'exoenzymes peut être également soumise à la répression catabolique.

Ainsi, les exoprotéases de *Bacillus subtilis* sont réprimées par le glucose (Hofsten, 1965).

3. Cinétique de l'action des exoenzymes.

Très peu de données existent concernant la cinétique d'action des exoenzymes dans les milieux naturels.

Hattingh et al (1967) et Koltze et al (1968) concluent que l'activité exoenzymatique présente dans les digesteurs anaérobies est largement suffisante et ne constitue pas une étape limitante du processus global de dégradation de la matière organique.

Kailov et Finenko (1970), lors d'expériences sur des polysaccharides et des protéines naturelles marquées (extraites de cultures d'algues) ont montré l'importance des surfaces dans la dégradation exoenzymatique des macromolécules:

à l'équilibre, et à des concentrations en macromolécules proches des concentrations naturelles, 50 à 60 % des polysaccharides et des protéines s'adsorbent sur de la matière en suspension naturelle ou sur de la poudre de verre;

l'hydrolyse des macromolécules adsorbées est rapide (33% par jour) et aboutit à la désorption des monomères, puis à leur réabsorption par les microorganismes.

C. Cinétique de l'absorption de la matière organique par les microorganismes.

1. Aspects physiologiques.

L'action des perméases permettant l'entrée des substrats organiques à l'intérieur des cellules bactériennes obéit à une cinétique Michaelienne:

$$v_a = V_{\max} \frac{S_a}{K_a + S_a}$$

Chaque souche bactérienne d'une communauté pouvant a priori avoir des perméases de caractéristiques différentes, la cinétique résultante d'entrée d'un substrat est

$$\sum_i v_{ai} = \sum_i V_{\max i} \frac{S_a}{K_{ai} + S_a}$$

Cette résultante n'est pas nécessairement Michaelienne, sauf si - une souche domine dans la communauté

- les K_{ai} sont proches pour toutes les souches

Il se fait que c'est souvent le cas, ce qui a permis de mesurer in situ les constantes d'absorption de divers substrats (Tableau III).

Les valeurs trouvées sont en général de l'ordre de grandeur des concentrations en substrats dans le milieu.

2. Aspects sociologiques.

Des modifications très profondes et très rapides des caractéristiques cinétiques de l'absorption des substrats organiques peuvent intervenir suite à des modifications qualitatives et quantitatives des communautés bactériennes en réponse à des modifications de la concentration en substrats.

Lors du transfert de souches bactériennes dans des milieux riches en substrats organiques, on observe la sélection d'individu présentant des K_a de plus en plus élevés (K_a et V_{\max} semblent évoluer parallèlement) (Jannasch, 1968). Ceci explique que toutes les souches isolées utilisées en laboratoire présentent des K_a très supérieurs aux souches actives en milieu naturel.

Vaccaro & Jannasch (1967) et Vaccaro (1969) ont montré que, dans les eaux océaniques, les cinétiques d'absorption de substrats sont très souvent non Michaelienne, mais le deviennent après 24 h. de préincubation en présence du substrat.

Williams & Gray (1970) ont montré que l'addition d'un substrat à des échantillons d'eau du Pas de Calais induit, endéans les 24 h une accélération de son utilisation à peu près proportionnelle à la quantité ajoutée, de telle sorte que le temps de turnover des substrats est très vite ramené à une valeur constante caractéristique de la population microbienne.

Tableau III. Constantes d'absorption de divers substrats organiques déterminées in situ.

	Milieu	Stock (μM)	Km (μM)	auteur
<u>GLUCIDES</u>				
glucose	rivières (Colomb.Brit.)		.001-.094	Albright et al. 73
glucose	South Creek estuary (Caroline du N.)		.012-.278	Crawford et al. 74
glucose	Baie d'Ipswich (Maine)		.072	Wright et al. 75
glucose	Baie de Tokyo	.061-.64	.122-.373	Seki et al., 75
galactose	"	.005-.12	.047-.189	"
glucose	Philippines		.350	Seki et al., 74
galactose	"		2.026	"
glucose	Atlantique côtier		.062	Parsons et al. 66
<u>ACIDES AMINES</u>				
glycine	York estuary (Virginia)	.22	.12	Hobbie et al, 68
Aspartate	"	.014	.52	"
aspartate	South Creek estuary (Caroline du N.)		.045-1.238	Crawford et al, 74
glycine	Baie d'Ipswich (Maine)		.033	Wright et al. 75
glycine	Baie de Tokyo	.013-1.5	.093-.160	Seki et al., 75
aspartate	"	.030-.33	.075-.120	"
glycine	Philippines		.493	Seki et al., 74
aspartate	"		.286	"
glycine	Pacifique (off Japon)		.280-2.424	Seki et al., 72
aspartate	"		.316-.654	"
<u>ACIDES CARBOXYLIQUES</u>				
acétate	lagune d'aération des effluents d'une usine de pâte à papier	5	20	Stanley et al. 76
acetate	Baie de Kiel		.080-.394	Gocke, 75
acétate	Baie d'Ipswich (Maine)		.100	Wright et al, 75
acetate	Atlantique côtier		.250-1.25	Parsons et al, 66
glycolate	Baie d'Ipswich (Maine)		.605	Wright et al, 75

D. Les voies métaboliques.

Une fois absorbés par les microorganismes, que deviennent les substrats organiques? Quelles sont les voies métaboliques qui permettent leur dégradation? Quels sont les facteurs du milieu qui font qu'une voie est utilisée plutôt qu'une autre? Comment s'agencent au niveau de la communauté bactérienne les différentes voies métaboliques complémentaires?

1. Les voies métaboliques.

Les principales voies métaboliques utilisées par les bactéries pour la dégradation des substrats organiques sont représentées schématiquement dans le tableau IV qui essaye d'en mettre en évidence les grands principes physiologiques.

Un premier stade d'oxydation, jusqu'au stade pyruvate est commun à la plupart des métabolismes.

Dans un certain nombre de fermentations de type primitif (fermentation lactique, propionique et alcoolique type I) commence alors directement une phase réductrice destinée à la régénération du pouvoir oxydant.

Dans les autres métabolismes, la phase oxydative est encore poussée plus loin grâce à une décarboxylation oxydative du pyruvate, aboutissant à la formation d'acetylCoA. Dans un certain nombre de fermentations de type plus évolué (fermentation alcoolique type II, butyrique,...) le pouvoir oxydant nécessaire à cette décarboxylation oxydative est obtenu grâce à l'utilisation d' H^+ comme oxydant externe et à la production d'hydrogène.

Dans les métabolismes respiratoires enfin, la phase oxydative est poussée encore plus loin grâce au cycle de Krebs (bien que les enzymes de ce cycle ne soient pas présents chez les bactéries sulfatoréductrices) et la régénération du pouvoir oxydant se fait entièrement par transfert d'électrons vers un oxydant externe.

2. Effet des conditions du milieu.

Nos connaissances relatives aux conditions du milieu qui conditionnent l'occurrence d'une voie métabolique particulière sont encore très limitées. La notion de potentiel d'oxydo-réduction du milieu (Billen, 1976) permet cependant d'établir certaines conditions thermodynamiques d'occurrence des divers types de métabolismes.

En ce qui concerne les métabolismes respiratoires, on observe une succession dans l'utilisation des oxydants, qui correspond à celle prévue par la thermodynamique: O_2 , MnO_2 , NO_3^- , $Fe(OH)_3$, SO_4^{--} , CO_2 .

Dans certains cas, cette succession résulte d'une régulation physiologique ayant pour effet, chez un organisme capable d'utiliser plusieurs oxydants, d'optimiser en toutes circonstances le rendement énergétique de l'utilisation des substrats organiques en utilisant le meilleur oxydant présent (ex: respiration aérobie/dénitrification). Dans d'autres cas, il s'agit d'un effet de toxicité d'un oxydant sur les organismes adaptés à en utiliser un moins puissant (ex: effet de l'oxygène sur les sulfatoréductrices, sur les méthanisantes; effet des nitrates sur les sulfatoréductrices).

En ce qui concerne les métabolismes fermentatifs, certains sont inhibés en présence d'oxygène, soit sous l'effet d'une régulation chez les organismes fermentatifs facultatifs (effet Pasteur), soit par un effet de toxicité général de l'oxygène (ex. fermentations butyriques. D'autres sont insensibles à la concentration en oxygène (ex. fermentations lactiques).

GLUCIDES

AC. AMINES

AC. GRAS

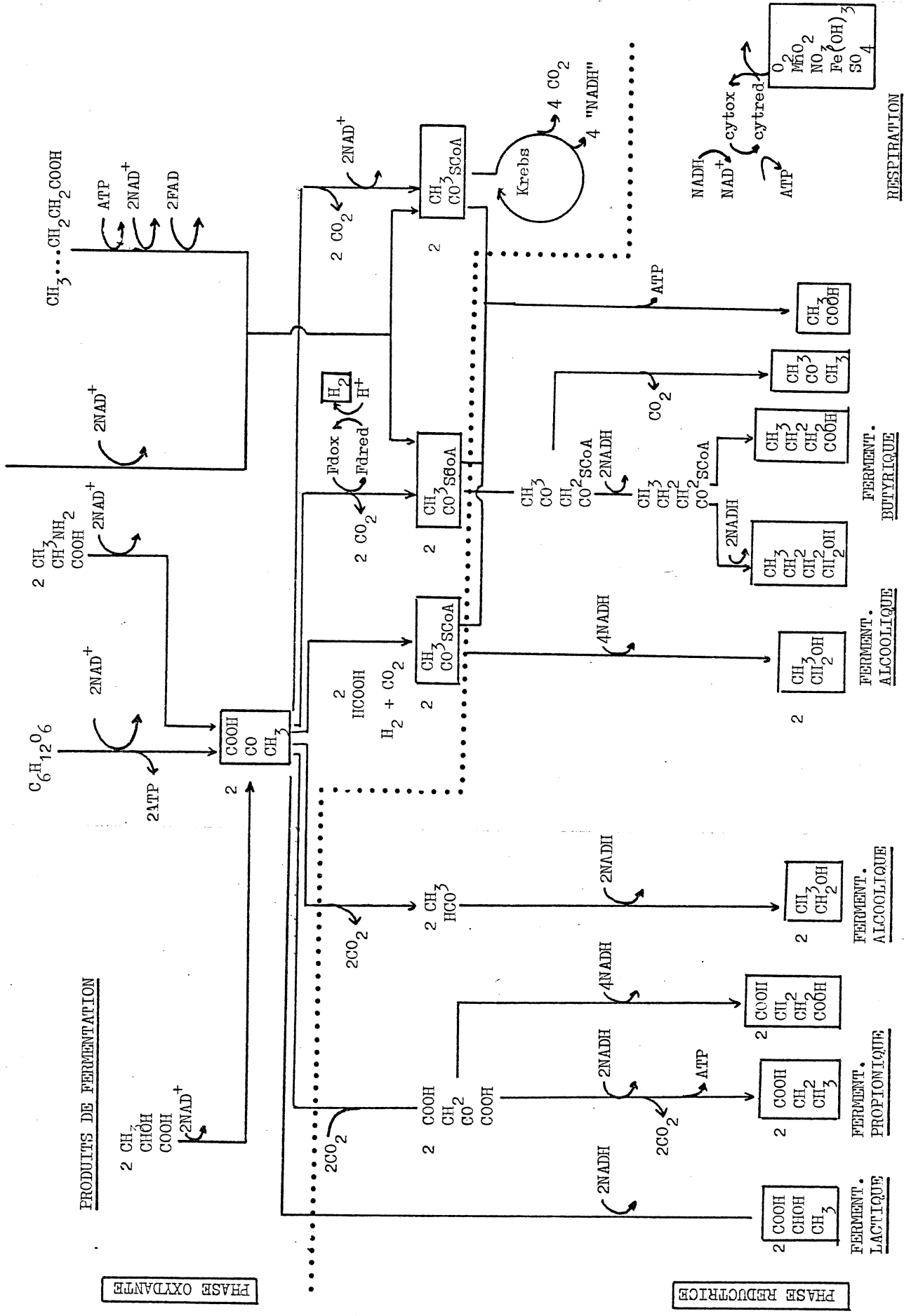


Tableau IV. Principaux types métaboliques bactériens.

3. Réseaux métaboliques.

Nous désignons sous ce terme l'ensemble des voies métaboliques par les quelles, dans des conditions données du milieu, les communautés bactériennes dégradent la matière organique.

Ces réseaux seraient utilisables à connaître pour mettre en évidence les étapes limitantes du processus global de dégradation de la matière organique.

Ils n'ont été décrits que dans de très rares situations. Nous en donnons deux exemples:

La dégradation de la cellulose dans le rumen des ovins (Fig.1);

La dégradation du lactate dans les sédiments du lac Vechten (NL) (Fig. 2).

Il existe des raisons de penser que les réseaux métaboliques de dégradation de la matière organique sont plus complexes et plus ramifiés en milieu anaérobie qu'en milieu aérobie.

En effet, la spécificité vis à vis du substrat organique est plus étroite pour les métabolismes anaérobies que pour les métabolismes respiratoires aérobie. Ainsi, les bactéries respiratoires aérobie peuvent le plus souvent utiliser une grande gamme de substrats organiques et les oxyder jusqu'au stade CO_2 . Certains substrats particulièrement réfractaires peuvent même être utilisés par des bactéries du genre *Pseudomonas*; leur dégradation exige en général l'intervention directe de l'oxygène. Une bonne partie de cette versatilité dans le choix des substrats organiques est perdue par le métabolisme dénitrifiant. Les bactéries sulfatoréductrices, quant à elles, qui ne possèdent pas les enzymes du cycle de Krebs, présentent une spécificité de substrat extrêmement précise, puisque seuls le lactate et le pyruvate peuvent être utilisés comme substrats.

Le passage à des conditions de milieu plus réductrices s'accompagne donc d'une plus grande spécialisation, et donc d'une plus grande interdépendance des métabolismes bactériens.

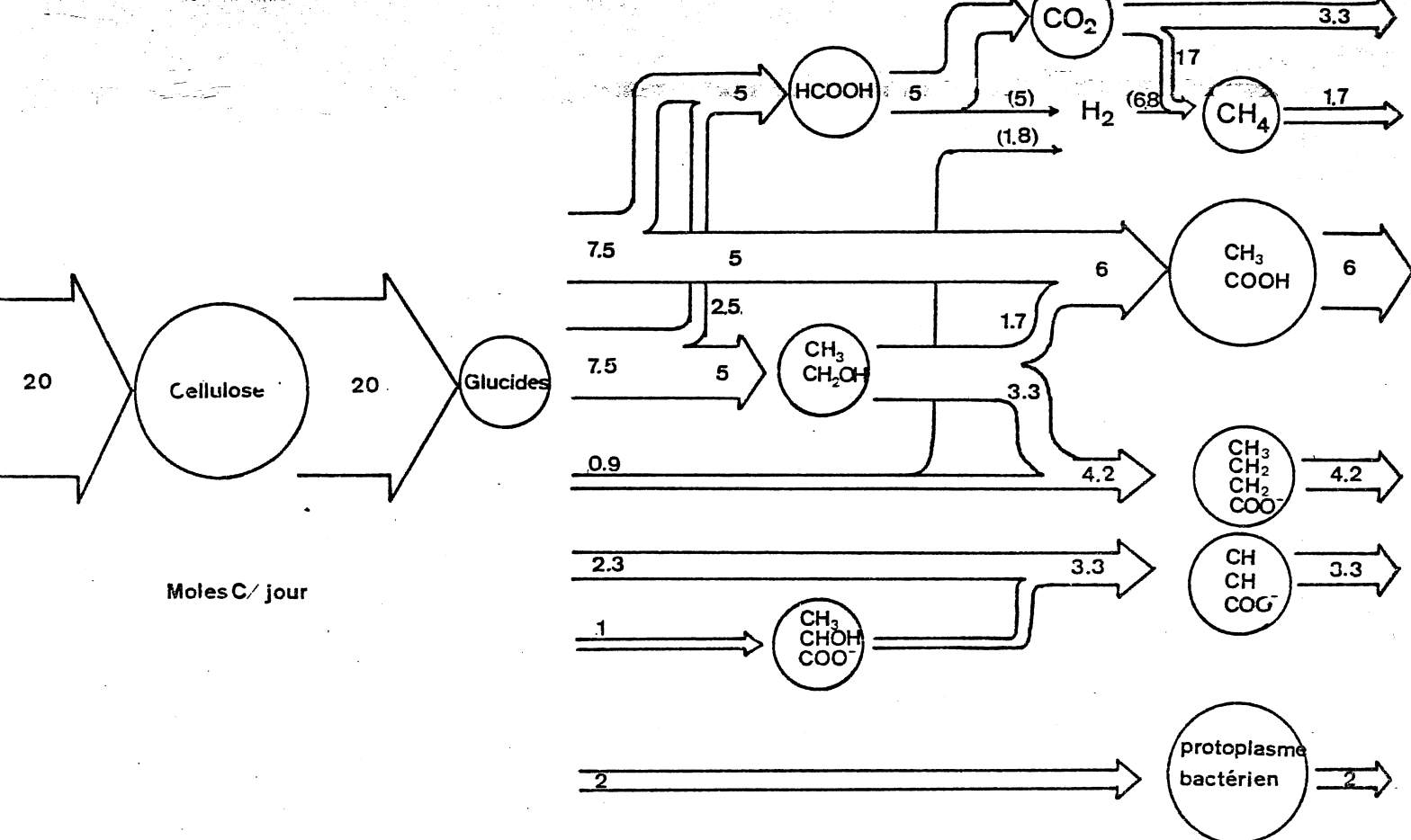


Figure 1. Dégradation de la cellulose dans le rumen des ovins. Chiffres cités par Hungate, 1962.

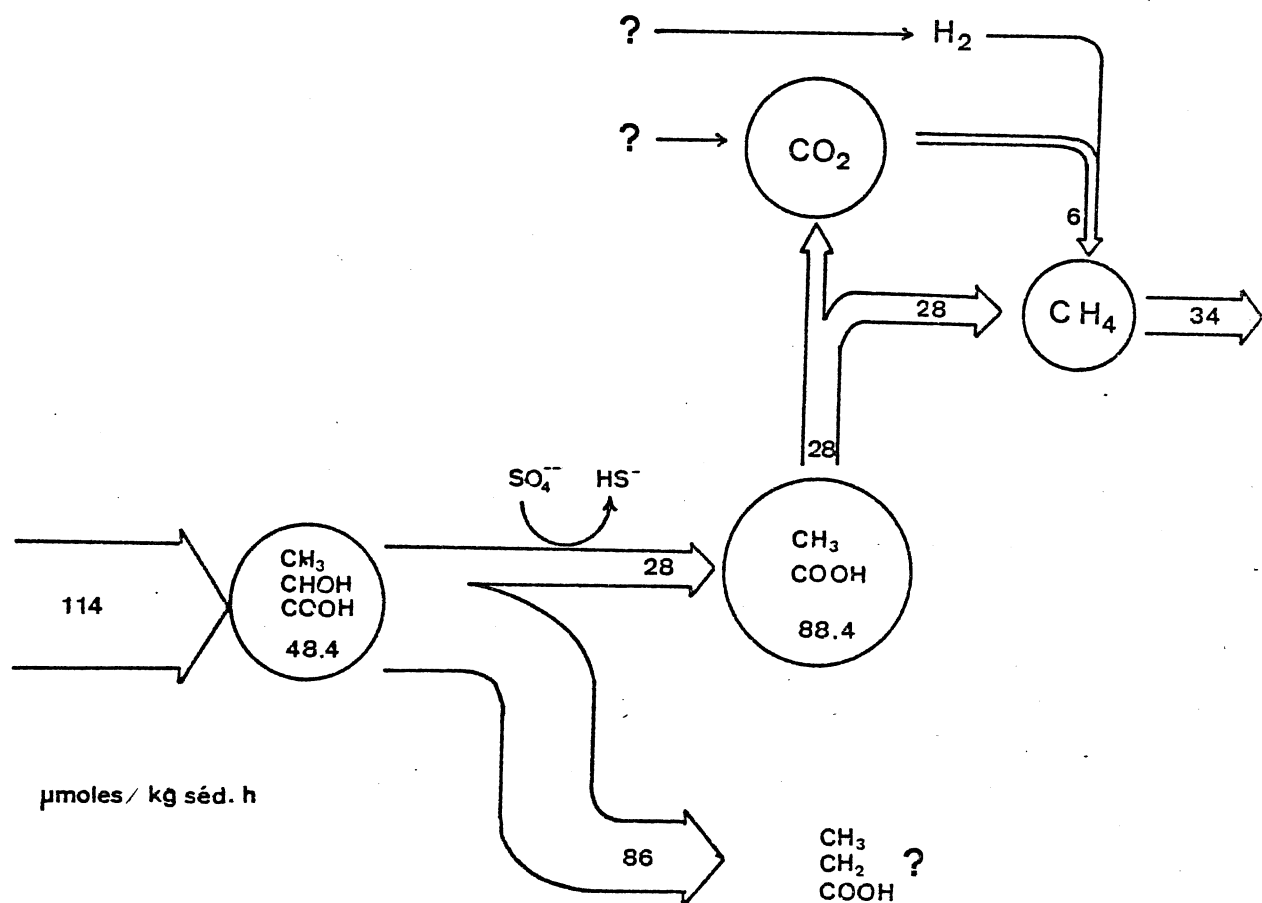


Figure 2. Devenir du Lactate dans les sédiments du Lac Vechten (NL) Chiffres établis par Capenberg, 1974.

III. CONCLUSIONS.

Aux modèles simplistes utilisés jusqu'à présent pour décrire la dégradation de la matière organique dans les milieux naturels, et que l'on peut représenter par le schéma de la Fig. 3., nous proposons de substituer un modèle inspiré du schéma de la figure 4.

Beaucoup de travail expérimental reste cependant à fournir, tant pour préciser les voies de transfert de matière impliquées, que pour définir les lois d'action des divers paramètres qui en contrôlent l'intensité.

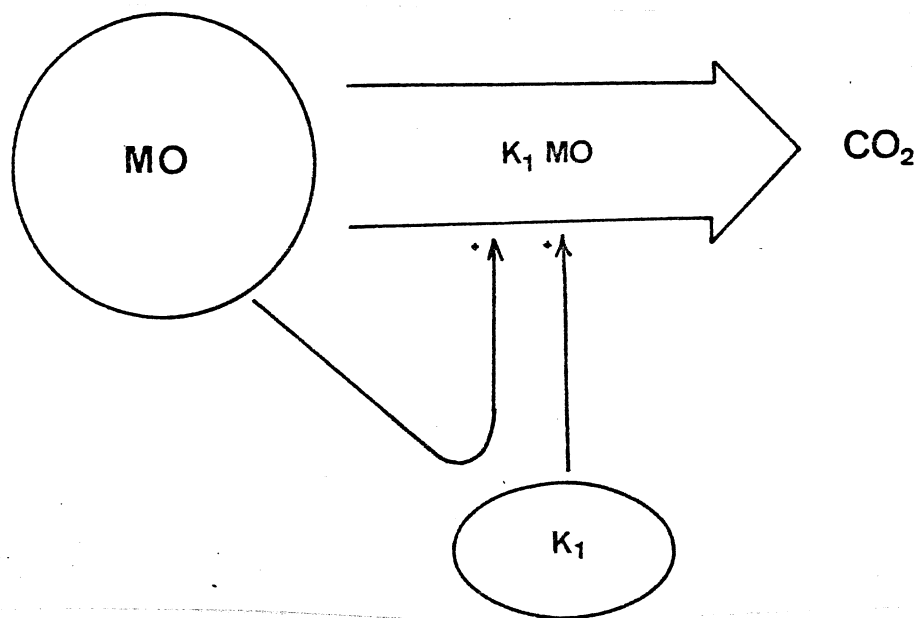


Figure 3. Représentation schématique des modèles classiques utilisés pour représenter l'interaction matière organique/bactéries.

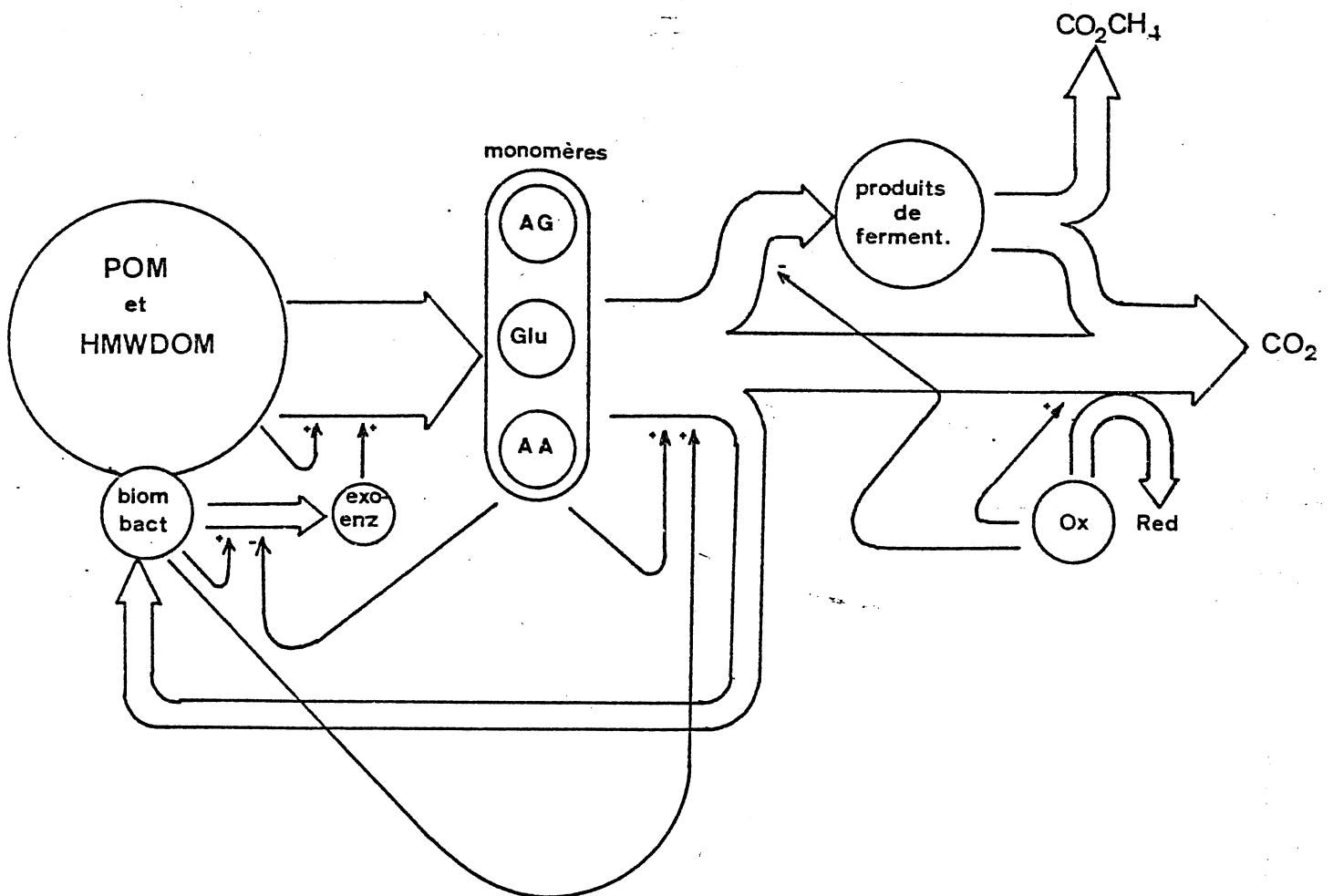


Figure 4. Représentation schématique des interactions réelles dans le système matière organique/bactéries.

REFERENCES.

- Albright, I.J. & Wentworth, J.W., 1973. *Environ. Pollut.* 5, 59-72.
- Berner, R.A., 1964. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 28, 1497-1503.
- Berner, R.A., 1974. In *The Sea*, Vol. 5. Goldberg ed. pp.427-450.
- Billen, G., 1976. Thèse ULB.
- Billen, G., 1978. *Estuar. Mar. Coast. Sci.* in Press.
- Breger, I.A., 1968. Symp. on Organic Matter in natural waters. Univers. Alaska.
- Bunch, R.J., Barth, E.F. & Ettinger, M.B., 1963. In *Advances in Biological Waste treatment*. Eckenfelder, W.W. & McCabe, J ed. N.Y. p77.
- Cappenberg, T.E., 1974. *Ant. Van Leeuwenhoek.* 40, 297-306.
- Crawford, C.C., Hobbie, J.E. & Webb, K.I., 1974. *Ecology.* 55, 551-563.
- Dawson, R., 1976. Symp. Edinburg.
- Dawson, R. & Gocke, K., 1978. *Oceanologica Acta* 1, 45-54.
- Degens, E.T., 1968. Symp. on Organic Matter in natural waters. Univers. Alaska.
- Fenchel, T., 1972. *Verh. Deutsch. Zool. Gesellschaft.* 65, 14-22.
- Green & Colarusso, 1964. *Biochim. Biophys. Acta.* 89, 277.
- Hattingh, W.H.G. et al., 1967. *Water Res.*, 1, 255.
- Gocke, K., 1975. *Mar. Biol.* 33, 49-55.
- Hobbie, J.E., Crawford, C.C. & Webb K.L., 1968. *Science.* 159, 1463-1464.
- Hofsten, 1965. *Biochim. Biophys. Acta.* 110, 576.
- Jannasch, H.W., 1968. *Journal of Bact.* 95, 722-723.
- Joiris, C., 1977. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* 30, 611-621.
- Kailov K.M. & Finenko, Z.Z., 1970. In *Marine food chains*.
- Kim, J. & Zobell, C.E., 1974. In *Effect of the Ocean environment...* Colwell ed.
- Kotzé, J.P., 1967. *Water Res.* 1, 351.
- Krom, M.D. & Sholkovitz, E.R., 1977. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 41, 1565-1573.
- May, B.K., 1968. *Biochim. Biophys. Acta.* 157, 607.
- Mommaerts, J.P., 1978. Thèse VUB.
- Neumark, R. & CITRI, N., 1962. *Biochim. Biophys. Acta.* 59, 749-751.
- Nissenbaum A. & Kaplan, I.R., 1972. *Limnol. Oceanogr.* 17, 570-582.
- Ogura, N., 1974. *Mar. Biol.* 24, 305-312.
- Parsons, I.R. & Strickland, J.D.H., 1962. *Deep Sea Res.* 8, 211-222.
- Pichot, G. & Runfola, Y., 1977. In *Rapport de synth. Projet Mer* Vol. 8.
- Rogers, H.J., 1961. In *The Bacteria*. Gunsalus & Stanier eds. Vol II.
- Seki, H., Yamagushi, Y. & Ichimura, S., 1975. *Arch. Hydrobiol.* 75, 297-305.
- Stanley, P.T. & Staley, J.T., 1977. *Limnol. & Oceanogr.* 25-37.
- Vaccaro, R.F., 1969. *Limnol. & Oceanogr.* 14, 726-735.
- Vaccaro, R.F. & Jannasch, H.W., 1967. *Limnol. & Oceanogr.* 12, 540-542.
- Vosjan, J., 1975. Thesis. Groningen.
- Williams, P.J. Le B. & Gray, R.W. J. *Mar. Biol. Assoc. UK*, 1970. 50, 871-881.
- Wright, R.I. & Shah, N.M., 1975. *Mar. Biol.* 33, 175-183.